

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 377 081**

51 Int. Cl.:
A01N 37/44 (2006.01)
A01P 21/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **07790944 .8**
96 Fecha de presentación: **18.07.2007**
97 Número de publicación de la solicitud: **2055188**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **06.05.2009**

54 Título: **Agente que aumenta el contenido en polifenol de plantas**

30 Prioridad:
10.08.2006 JP 2006217805

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
22.03.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
22.03.2012

73 Titular/es:
COSMO OIL CO., LTD.
1-1, SHIBAURA 1-CHOME, MINATO-KU
TOKYO 105-8528, JP

72 Inventor/es:
KONDO, Masao;
AIBA, Naomi;
MIYANARI, Setsuko;
ISHIZUKA, Masahiro y
TANAKA, Tohru

74 Agente/Representante:
Ungría López, Javier

ES 2 377 081 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Agente que aumenta el contenido en polifenol de plantas

5 Campo técnico

La presente invención se relaciona con la utilización de ácido 5-aminolevulínico, un derivado del mismo de fórmula (1) o una sal del mismo para aumentar el contenido en polifenol en una planta y con un método para aumentar el contenido en polifenol en una planta.

10 Técnica anterior

El polifenol es un término genérico de compuestos que tienen dos o más grupos hidroxilo fenólicos en las mismas moléculas. Su número asciende a 5.000 o más y se clasifica en basado en ácido fenilcarboxílico, basado en lignano, basado en curcumina, basado en cumarina o basado en flavonoides. El polifenol es un azúcar variado que está cambiado en parte, que está contenido en las hojas, las flores, la corteza y similares de las plantas, que se sintetiza por fotosíntesis y que tiene una acción de desactivación del oxígeno activo generado por los rayos ultravioleta.

Enfermedades relacionadas con el estilo de vida, tales como cánceres y enfermedades cardíacas, se desarrollan por lesión del ADN, ruptura de las membranas celulares, desnaturalización de las proteínas, lesión de los receptores y similares causadas por el oxígeno activo generado en componentes solubles en grasa entre las células y sobre las membranas celulares. El polifenol puede inducir apoptosis de las células cancerosas y también desactivar el oxígeno activo por la acción antioxidante, de tal forma que se dice que el polifenol es efectivo para la prevención de estas enfermedades (Documentos no relacionados con patente 1 y 2).

Por lo tanto, el polifenol atrae la atención como principio activo de alimentos funcionales y se han realizado activamente estudios de búsqueda de plantas que contengan polifenol. Sin embargo, apenas se conocen intentos de aumentar el contenido en polifenol en una planta y sólo se describe un método de aumento del contenido en flavonoide, que es un tipo de polifenol, utilizando una acilciclohexanodiona específica en el Documento de Patente 1, recientemente abierto al público.

Se sabe que una serie de ácidos 5-aminolevulínicos, tales como el ácido 5-aminolevulínico, representado por $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CO}(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$, derivados de sus ésteres alquílicos, etc., sus clorhidratos y similares son útiles como fotosensibilizador en terapia fotodinámica (Documento de Patente 2), como regulador del crecimiento de plantas (Documentos de Patente 3 y 8), como herbicida (Documentos de Patente 4 y 11), como terapia de infección con microorganismos y parásitos patógenos de peces (Documento de Patente 5), como acelerador del crecimiento en cerdos (Documento de Patente 6), como agente incrementador de polisacáridos en plantas (Documento de Patente 7), como agente para mejorar la tolerancia salina de las plantas (Documento de Patente 9), o como regulador de la pigmentación para manzanas (Documento de Patente 10). Sin embargo, se desconoce por completo un efecto incrementador del polifenol por los mismos.

[0006]

Documento de Patente 1: JP-A-2006-52217

Documento de Patente 2: JP-T-2004-505105

Documento de Patente 3: JP-A-07-53487

45 Documento de Patente 4: JP-A-05-117110

Documento de Patente 5: JP-A-2001-316255

Documento de Patente 6: JP-A-2003-40770

Documento de Patente 7: JP-A-09-87108

Documento de Patente 8: EP 0.514.776 A

50 Documento de Patente 9: EP 0.714.600 A

Documento de Patente 10: EP 0.598.304 A

Documento de Patente 11: JP 04 009360 A

Documento no relacionado con patentes 1: Br. J. Pharmacol. 123: 565-573 (1998)

Documento no relacionado con patentes 2: Oncogene 24: 7180-7189, 2005

55

Descripción de la invención**Problemas que la invención ha de resolver**

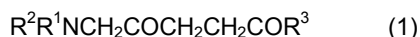
60 Un objeto de la invención es aumentar el contenido en polifenol en una planta.

Medios para resolver los problemas

Los presentes inventores han visto que el contenido en polifenol en una planta aumenta mediante el uso de una 5-aminolevulina en una planta y han llevado así a cabo la invención.

A saber, la invención proporciona la utilización de un ácido 5-aminolevulínico o de un derivado del mismo representado por la siguiente fórmula (1), o de una sal del mismo, para aumentar el contenido en polifenol en una planta:

(Quím. 1)



donde R^1 y R^2 representan cada uno independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo, un grupo acilo, un grupo alcoxycarbonilo, un grupo arilo o un grupo aralquilo, y R^3 representa un grupo hidroxilo, un grupo alcoxi que puede tener un sustituyente, un grupo aciloxi, un grupo alcoxycarboniloxi, un grupo ariloxi, un grupo aralquilo o un grupo amino, o una sal del mismo.

Ventaja de la invención

El uso de ácido 5-aminolevulínico o de un derivado del mismo de fórmula (1), o de una sal del mismo, de la invención puede aumentar el contenido en polifenol en plantas conveniente y eficazmente y puede así impartir naturaleza de alimento funcional a una planta.

Mejor modo de realización de la invención

En la presente invención, se usa ácido 5-aminolevulínico o un derivado del mismo representado por la anterior fórmula (1), o una sal del mismo, como principio activo de un agente incrementador del contenido en polifenol.

El grupo alquilo representado por R^1 y R^2 en la fórmula (1) es preferiblemente un grupo alquilo lineal o ramificado de 1 a 24 átomos de carbono, y más preferiblemente un grupo alquilo de 1 a 18 átomos de carbono; particularmente, se prefiere un grupo alquilo de 1 a 6 átomos de carbono. Como grupo alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, se pueden mencionar un grupo metilo, un grupo etilo, un grupo n-propilo, un grupo isopropilo, un grupo n-butilo o un grupo sec-butilo.

Como grupo acilo representado por R^1 y R^2 , se prefieren un grupo alcanóilo lineal o ramificado, un grupo alquenoilcarbonilo, un grupo aroílo o un grupo ariloxycarbonilo de 1 a 24 átomos de carbono, preferiblemente de 1 a 12 átomos de carbono, y particularmente se prefiere un grupo alcanóilo de 1 a 6 átomos de carbono. Como grupo acilo, se pueden mencionar un grupo formilo, un grupo acetilo, un grupo n-propanoílo, un grupo n-butanoílo, un grupo n-pentanoílo, un grupo n-hexanoílo, un grupo n-nonanoílo o un grupo benciloxycarbonilo.

Como grupo alcoxycarbonilo representado por R^1 y R^2 , se prefiere un grupo alcoxycarbonilo de 2 a 13 átomos de carbono en total, y particularmente se prefiere un grupo alcoxycarbonilo de 2 a 7 átomos de carbono. Como grupo alcoxycarbonilo, se pueden mencionar un grupo metoxycarbonilo, un grupo etoxycarbonilo, un grupo n-propoxycarbonilo o un grupo isopropoxycarbonilo.

Como grupo arilo representado por R^1 y R^2 , se prefiere un grupo arilo de 6 a 16 átomos de carbono, y se pueden mencionar, por ejemplo, un grupo fenilo o un grupo naftilo.

Como grupo aralquilo representado por R^1 y R^2 , se prefiere un grupo compuesto por un grupo arilo de 6 a 16 átomos de carbono y el anterior grupo alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, y se puede mencionar, por ejemplo, un grupo bencilo.

Como grupo alquilo que puede estar substituido, el grupo representado por R^3 , se puede mencionar, por ejemplo, un grupo alquilo de estructura lineal o ramificada o cíclica de 1 a 24 átomos de carbono que puede tener un substituyente. Como substituyente que puede tener el grupo alquilo, se pueden mencionar, por ejemplo, un grupo hidroxilo, un grupo alcoxi, un grupo fenilo y similares. Como ejemplos preferidos del grupo alquilo que puede tener un substituyente, se pueden mencionar, por ejemplo, un grupo metilo, un grupo etilo, un grupo n-propilo, un grupo isopropilo, un grupo n-butilo, un grupo isobutilo, un grupo terc-butilo, un grupo n-pentilo, un grupo isopentilo, un grupo neopentilo, un grupo terc-pentilo, un grupo 2-metilbutilo, un grupo n-hexilo, un grupo ciclohexilo, un grupo isohexilo, un grupo 3-metilpentilo, un grupo etilbutilo, un grupo n-heptilo, un grupo 2-metilhexilo, un grupo n-octilo, un grupo isooctilo, un grupo terc-octilo, un grupo 2-etilhexilo, un grupo 3-metilheptilo, un grupo n-nonilo, un grupo isononilo, un grupo 1-metiloctilo, un grupo etilheptilo, un grupo n-dodecilo, un grupo 1-metilnonilo, un grupo n-

undecilo, un grupo 1,1-dimetilnonilo, un grupo n-tridecilo, un grupo n-tetradecilo, un grupo n-pentadecilo, un grupo n-hexadecilo, un grupo n-heptadecilo, un grupo n-octadecilo, un grupo bencilo, un grupo fenetilo, un grupo 3-fenilpropilo, un grupo hidroxietilo, un grupo etoxietilo y similares. De éstos, es más preferido un grupo alquilo de 1 a 6 átomos de carbono.

5 Como grupo aciloxi representado por R^3 , se prefiere un grupo alcanoiloxi lineal o ramificado de 1 a 12 átomos de carbono, y se prefiere particularmente un grupo alcanoiloxi de 1 a 6 átomos de carbono. Como grupo aciloxi, se pueden mencionar un grupo acetoxi, un grupo propioniloxi o un grupo butiriloxi.

10 Como grupo alcoxicarboniloxi representado por R^3 , se prefiere un grupo alcoxicarboniloxi de 2 a 13 átomos de carbono en total, y se prefiere particularmente un grupo alcoxicarboniloxi de 2 a 7 átomos de carbono en total. Como grupo alcoxicarboniloxi, se pueden mencionar un grupo metoxicarboniloxi, un grupo etoxicarboniloxi, un grupo n-propoxicarboniloxi o un grupo isopropoxicarboniloxi.

15 Como grupo ariloxi representado por R^3 , se prefiere un grupo ariloxi de 6 a 16 átomos de carbono, y se pueden mencionar, por ejemplo, un grupo fenoxi o un grupo naftiloxi. Como grupo aralquilo, se prefiere uno que tenga el anterior grupo aralquilo, y se puede mencionar, por ejemplo, un grupo benciloxi.

20 Como R^1 y R^2 en la fórmula (1), se prefiere un átomo de hidrógeno. Como R^3 , se prefieren un grupo hidroxilo, un grupo alcoxi o un grupo aralquilo, y más preferiblemente un grupo hidroxilo o un grupo alcoxi de 1 a 12 átomos de carbono, particularmente de 1 a 6 átomos de carbono; en particular, se prefieren un grupo metoxi o un grupo hexiloxi.

25 Como derivado de ácido 5-aminolevulínico, se pueden mencionar el éster metílico del ácido 5-aminolevulínico, el éster etílico del ácido 5-aminolevulínico, el éster propílico del ácido 5-aminolevulínico, el éster butílico del ácido 5-aminolevulínico, el éster pentílico del ácido 5-aminolevulínico, el éster hexílico del ácido 5-aminolevulínico y similares. Particularmente, se prefieren el éster metílico del ácido 5-aminolevulínico o el éster hexílico del ácido 5-aminolevulínico.

30 Como sal del ácido 5-aminolevulínico o su derivado, se pueden mencionar, por ejemplo, sales de adición de ácido, tales como clorhidratos, bromhidratos, yodhidratos, fosfatos, metilfosfatos, etilfosfatos, fosfitos, hipofosfitos, nitratos, sulfatos, acetatos, propionatos, toluensulfonatos, succinatos, oxalatos, lactatos, tartratos, glicolatos, metanosulfonatos, butiratos, valeratos, citratos, fumaratos, maleatos y malatos; sales metálicas, tales como sales de sodio, sales de potasio y sales de calcio; sales de amonio y sales de alquilamonio, y similares. Estas sales son
35 utilizadas como soluciones acuosas o como polvos.

El anterior ácido 5-aminolevulínico, un derivado del mismo de fórmula (1) y una sal del mismo (a los que en adelante se hará aquí referencia como "ácido 5-aminolevulínico o similar") pueden formar hidratos o solvatos. Más aún, se
40 puede usar cualquiera de ellos individualmente o se pueden usar adecuadamente dos o más de ellos en combinación.

El ácido 5-aminolevulínico o similar para uso en la invención puede ser producido por cualquier método de síntesis química, de producción por un microorganismo y de producción por una enzima. Específicamente, puede ser
45 producido según los métodos descritos en JP-A-48-92328, JP-A-62-111954, JP-A-2-76841, JP-A-6-172281, JP-A-7-188133 y JP-A-11-42083. Se pueden usar el ácido 5-aminolevulínico o similar y una solución de reacción química o un líquido de fermentación de la misma antes de la purificación, producidos como antes, tal cual sin separación y purificación, a menos que contengan sustancia(s) perjudicial(es). Más aún, también se puede usar un producto comercial.

50 Tal como se muestra en los siguientes Ejemplos, tratando una planta con ácido 5-aminolevulínico o similar, se aumenta el contenido total en ácido clorogénico, ácido cafeico, ácido ferúlico, rutina, quercetina, luteolina, hesperetina, kaempferol, apigenina e isoramnetina, que son polifenoles típicos contenidos en una planta. Por lo tanto, se puede usar el ácido 5-aminolevulínico o similar como agente incrementador del contenido en polifenol de una planta. La acción de dicho ácido 5-aminolevulínico o similar es totalmente inesperada y la invención es útil para
55 mejorar el valor de una planta como alimento funcional.

El ácido 5-aminolevulínico o similar es adecuadamente utilizado como agente incrementador para el polifenol basado en ácido fenilcarboxílico, basado en lignano, basado en curcumina, basado en cumarina o basado en flavonoides, particularmente como agente incrementador para el polifenol basado en ácido fenilcarboxílico o basado
60 en flavonoides. Más aún, se usa adecuadamente el ácido 5-aminolevulínico o similar como agente incrementador para el ácido clorogénico, el ácido cafeico o el ácido ferúlico entre los polifenoles basados en ácido fenilcarboxílico, y como agente incrementador para la apigenina, la rutina o la luteolina, la quercetina, el kaempferol, la isoramnetina o la hesperetina entre los polifenoles basados en flavonoides.

- La planta objetivo para el ácido 5-aminolevulínico o similar no está particularmente limitada, pero, en caso de utilizar una planta que tenga un mayor contenido en polifenol como alimento funcional, es ventajoso utilizar una planta que tenga un alto contenido en polifenol. Como tal planta, se pueden mencionar, por ejemplo, plantas pertenecientes a Camelliaceae, Solanaceae, Lagminosae, Umbelliferae, Liliaceae o Rosaceae. Como alimento, se pueden mencionar cereales, judías, patatas y almidones, frutos secos y semillas, hortalizas, frutas y setas. De éstos, se prefieren específicamente manzana, pera, soja, soja verde, perejil, fresa, espárrago, cebolla, pimienta verde, uvas y té, y particularmente, con el fin de aumentar el basado en flavonoides, se prefieren pera, soja verde, pimienta verde y té. El té es utilizado como té negro, té oolong o té verde.
- El ácido 5-aminolevulínico o similar es adecuado como agente incrementador particularmente para el ácido clorogénico, el ácido ferúlico, la rutina, la quercetina o la hesperetina en caso de que el objetivo sea el pimienta verde, es adecuado como agente incrementador particularmente para el ácido cafeico, el ácido ferúlico, la apigenina o la isoramnetina en caso de que el objetivo sea la pera, es adecuado como agente incrementador para la hesperetina en caso de que el objetivo sea la soja verde, es adecuado como agente incrementador para la luteolina o la hesperetina en caso de que el objetivo sea el té, es adecuado como agente incrementador para la luteolina o la hesperetina en caso de que el objetivo sea el espárrago y es adecuado como agente incrementador para la quercetina o la hesperetina en caso de que el objetivo sea el perejil.
- Como forma de agente incrementador del contenido en polifenol de la invención, se pueden mencionar un polvo, una tableta o un gránulo.
- Se pueden producir adecuadamente usando un solvente, un medio de dispersión, un rellente y/o un excipiente según un método habitual.
- También se puede utilizar el agente incrementador del contenido en polifenol de la invención después de adsorber un polvo de ácido 5-aminolevulínico o similar, una solución acuosa que contiene ácido 5-aminolevulínico o similar disuelto en ella o un líquido de fermentación que contiene ácido 5-aminolevulínico o similar producido por el método antes mencionado sobre un soporte, tal como un excipiente. El tipo de soporte puede ser común y se pueden mencionar celulosa cristalina, gelatina, almidón, dextrina, una torta de aceite, levadura de pan, levadura de sake, levadura de vino, leche desnatada en polvo, lactosa, aceite y grasa animal o vegetal, fosfato de calcio anhidro, carbonato de calcio, estearato de magnesio, aluminosilicato de magnesio y aluminometasilicato de magnesio.
- En caso de preparar el agente incrementador del contenido en polifenol de la invención como una solución acuosa, con objeto de evitar la descomposición del ácido 5-aminolevulínico o similar como principio activo, es necesario prestar atención para que la solución acuosa no se vuelva alcalina. En caso de que la solución acuosa se vuelva alcalina, se puede evitar la descomposición del principio activo eliminando el oxígeno disuelto.
- El agente incrementador del contenido en polifenol de la invención no está particularmente limitado en la medida en que contenga ácido 5-aminolevulínico o similar como principio activo. Se puede usar el ácido 5-aminolevulínico o similar tal cual o se puede mezclar un regulador del crecimiento de las plantas, un azúcar, un aminoácido, un ácido orgánico, un alcohol, una vitamina y/o un mineral, a menos que la ventaja de la invención resulte perjudicada.
- Como regulador del crecimiento de las plantas para uso aquí, se pueden mencionar, por ejemplo, brasinólidos, tales como epibrasinólido, agentes de colina, tales como cloruro de colina y nitrato de colina, ácido indolbutírico, ácido indolacético, agente eticlozato, agente 1-naftilacetamida, agente isotriolano, agente amida del ácido nicotínico, agente hidroxisooxazol, agente peróxido de calcio, agente bencilaminopurina, agente metasulfocarb, agente oxietilendocosanol, agente etefón, agente clochinfonaco, giberelina, agente daminozida, agente 4-CPA, agente ancimidol, agente inabenfid, agente uniconazol, agente clormecuat, agente dikeblack, agente mefluidida, agente carbonato de calcio y agente butóxido de piperonilo.
- Como azúcar, se pueden mencionar, por ejemplo, glucosa, sacarosa, xilitol, sorbitol, galactosa, xilosa, manosa, arabinosa, madurosa, ribosa, ramnosa, fructosa, maltosa, lactosa y maltotriosa.
- Como aminoácido, se pueden mencionar, por ejemplo, asparagina, glutamina, histidina, tirosina, glicina, arginina, alanina, triptófano, metionina, valina, prolina, leucina, lisina e isoleucina.
- Como ácido orgánico, se pueden mencionar, por ejemplo, el ácido fórmico, el ácido acético, el ácido propiónico, el ácido butírico, el ácido valérico, el ácido oxálico, el ácido ftálico, el ácido benzoico, el ácido láctico, el ácido cítrico, el ácido tartárico, el ácido malónico, el ácido málico, el ácido succínico, el ácido glicólico, el ácido glutámico, el ácido aspártico, el ácido maleico, el ácido caproico, el ácido caprílico, el ácido mirístico, el ácido esteárico, el ácido palmítico, el ácido pirúvico y el ácido α -cetoglutámico.
- Como alcohol, se pueden mencionar, por ejemplo, el metanol, el etanol, el propanol, el butanol, el pentanol, el

hexanol y el glicerol.

Como vitamina, se pueden mencionar, por ejemplo, la amida del ácido nicotínico, la vitamina B6, la vitamina B12, la vitamina B5, la vitamina C, la vitamina B13, la vitamina B1, la vitamina B3, la vitamina B2, la vitamina K3, la vitamina A, la vitamina D2, la vitamina D3, la vitamina K1, el α -tocoferol, el β -tocoferol, el γ -tocoferol, el σ -tocoferol, el ácido p-hidroxibenzoico, la biotina, el ácido fólico, el ácido nicotínico, el ácido pantoténico y el ácido α -lipoico.

Como mineral, se pueden citar, por ejemplo, el nitrógeno, el fósforo, el potasio, el sodio, el calcio, el boro, el níquel, el selenio, el manganeso, el magnesio, el zinc, el cobre, el hierro y el molibdeno.

La aplicación del agente incrementador del contenido en polifenol de la invención a una planta no está particularmente limitada, pero el agente puede estar destinado a ser absorbido por las raíces, las hojas o los tallos. Por ejemplo, se puede usar el agente para tratamiento foliar (un agente de tratamiento foliar) o se puede usar para tratamiento de suelos (un agente de tratamiento del suelo). Más aún, el agente puede absorberse antes de plantar una planta o de plantar un esqueje. Además, se puede añadir el agente al agua en hidroponía.

En caso de usar el agente incrementador del contenido en polifenol de la invención como agente de tratamiento foliar, se prefiere incorporar el ácido 5-aminolevulínico o similar en una concentración de 0,1 a 1.000 ppm, preferiblemente de 0,5 a 500 ppm, en particular preferiblemente de 1 a 300 ppm, y se usa en una proporción de 10 a 1.000 L, particularmente de 50 a 300 L, por 10 áreas. En caso de usar el agente sobre una planta, tal como una monocotiledónea a cuyas hojas apenas se une el agente, es deseable usar un agente propagador en combinación. El tipo y la cantidad del agente propagador que se ha de utilizar no están particularmente limitados.

En caso de usar el agente incrementador del contenido en polifenol de la invención como agente de tratamiento del suelo, se prefiere usar el ácido 5-aminolevulínico o similar en una proporción de 10 a 1.000 g, particularmente de 10 a 500 g, por 10 áreas. En este sentido, en hidroponía, se prefiere usarlo en aproximadamente la misma cantidad.

En caso de que se adopte un método de absorción del ácido 5-aminolevulínico o similar por humectación antes de la plantación usando el agente incrementador del contenido en polifenol de la invención, la concentración de ácido 5-aminolevulínico o similar en la solución de humectación es deseablemente de 0,001 a 10 ppm, particularmente de 0,01 a 5 ppm, y el tiempo de humectación es deseablemente de 1 hora a 1 semana, particularmente de 3 horas a 1 día.

En el método de tratamiento con el agente incrementador del contenido en polifenol de la invención, particularmente en la elección del momento de utilización, las condiciones de cultivo no están particularmente limitadas, pero el tratamiento es preferiblemente realizado en el momento en que el contenido en polifenol en una planta es elevado, y se prefiere particularmente una estación de bajas temperaturas o una estación seca. Más aún, se obtiene un efecto suficiente tratando una planta una vez, pero el efecto puede verse aún incrementado tratando la planta dos o más veces. En este caso, se puede combinar cada uno de los métodos descritos anteriormente.

El agente incrementador del contenido en polifenol de la invención puede aumentar el contenido en polifenol en una planta. Como método de ingestión de la planta a la que se ha aplicado la invención, se pueden mencionar un método de ingestión de la planta tal cual, un método de ingestión de ésta como alimento, como alimento procesado o como bebida de lujo y métodos similares, pero el método de ingestión no está particularmente limitado, a menos que el método reduzca el polifenol en gran medida. Más aún, es también posible extraer polifenol de la planta, si es necesario. El método de extracción y aislamiento del polifenol de la planta en la que se aumenta el contenido en polifenol mediante el agente incrementador del contenido en polifenol de la invención no está particularmente limitado, y se emplean métodos conocidos. Por ejemplo, se pueden mencionar un método en el que se extraen con agua las fracciones hidrosolubles de la planta tal cual o después de procesarla en una forma adecuada para la extracción secando, cortando finamente o pulverizando la planta, para eliminar así más o menos los contaminantes, y se realiza luego la extracción con un solvente orgánico, tal como acetato de etilo, y un método de purificación por cromatografía en columna usando gel de sílice u ODS como soporte.

Ejemplos

Lo que sigue describirá específicamente la invención con referencia a Ejemplos, pero éstos son sólo citados como ilustración y no limitan la invención.

Ejemplo 1

Se dispuso de dos recipientes (longitud: 0,75 m, anchura: 0,5 m) y se puso tierra en cada uno de ellos. Se usó un fertilizante químico (contenido en nitrógeno:contenido en fósforo:contenido en potasio = 15:15:15 como razón de masas) como fertilizante base y se cultivaron plantas jóvenes de pimiento verde (Solanaceae, género cayena, raza

Miogi) durante dos meses según un método convencional. Se aplicó agua a las plantas jóvenes una vez al día mediante un bidón de aspersión. Con anterioridad a un mes antes la cosecha, se realizó el tratamiento una vez por semana con 50 mL por recipiente de cada solución acuosa que contenía 0 ppm (control) o 1 ppm de clorhidrato del ácido 5-aminolevulínico y a la que se había añadido un agente propagador, Approach BI (fabricado por Kao Corporation), en una proporción del 0,1% en masa. Tras la cosecha, se cortaron finamente 3 g de pimiento verde con tijeras y con un cuchillo de cocina y se homogeneizaron luego tras añadir agua. Se diluyó el homogenado hasta 6 mL con agua destilada (solución stock) y se dividió la solución stock en tres porciones iguales, que se utilizaron en los métodos de extracción (1) a (3) siguientes. (1) Se añadieron 3 mL de acetato de etilo a 2 mL de la solución stock y se centrifugó la solución resultante a 3.000 rpm durante 10 minutos. Se transfirió el sobrenadante a un tubo de saliva y se evaporó a sequedad con nitrógeno gaseoso mientras se sumergía el tubo en un baño caliente a aproximadamente 60°C. Se añadieron 200 µL de metanol y 100 µL de agua destilada, llevando así el volumen a 300 µL. (2) Se añadieron 2 mL de metanol a 2 mL de la solución stock y se centrifugó la solución resultante a 3.000 rpm durante 10 minutos. Se transfirió el sobrenadante a un tubo de saliva y se evaporó a sequedad con nitrógeno gaseoso mientras se sumergía el tubo en un baño caliente a aproximadamente 60°C. Se añadieron 200 µL de metanol y 100 µL de agua destilada, llevando así el volumen a 300 µL. (3) Se añadió 1 mL de ácido clorhídrico 0,1N a 2 mL de la solución stock y se transfirió la solución resultante a un tubo de plástico y se mantuvo en un baño con cierre de impulsión a 96,5°C durante 1 hora para efectuar la hidrólisis. Se añadieron 5 mL de acetato de etilo y se centrifugó la solución resultante a 3.000 rpm durante 10 minutos. Se transfirió el sobrenadante a un tubo de saliva y se evaporó a sequedad con nitrógeno gaseoso mientras se sumergía el tubo en un baño caliente a aproximadamente 60°C. Se añadieron 200 µL de metanol y 100 µL de agua destilada, llevando así el volumen a 300 µL. Se midieron las muestras (1) a (3) por cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) (condiciones analíticas: se realizó la medición a una velocidad de flujo de 1,0 mL/min. a una temperatura de columna de 40°C, usando una longitud de onda de 350 nm, usando Líquido A (80% en volumen de metanol/5% en volumen de ácido acético) o Líquido B (10% en volumen de metanol/5% en volumen de ácido acético) como eluyente y utilizando una columna Hichrom5C18, T898, 4,6 mm × 150 mm (fabricada por LLOYD'S REGISTER QUALITY COMPANY), y se calculó cada concentración en base a soluciones estándar. En la Tabla 1, se citó el valor más altamente extraído entre los resultados medidos con cada uno de los métodos de extracción (1) a (3). Más aún, se consideró la suma de la concentración individual de polifenol usada en este momento como la cantidad total de polifenol.

Como se muestra en la Tabla 1, la cantidad total de polifenol contenida en el pimiento verde tratado con el presente agente aumentó 9,4 veces en comparación con el control.

[Tabla 1]

Cantidad de polifenol en pimiento verde		
	Tratamiento ALA	Control
Ácido clorogénico	4.856	675
Ácido cafeico	276	113
Ácido ferúlico	5.680	417
Rutina	5.696	79
Quercetina	28.919	2.811
Luteolina	644	127
Hesperetina	236	0
Kaempferol	668	195
Apigenina	0	0
Isoramnetina	1.849	787
Cantidad total de polifenol	48.824	5.204
Razón ALA/control	9,4	-
Unidad: ng/g		

Ejemplo 2

Con anterioridad a 150 días antes de la cosecha, se trató pera (Camelliaceae, género pera, raza Kosui) cultivada en un campo de producción agrícola una vez cada quincena con una cantidad de aspersión de 300 L/ton de cada solución acuosa que contenía 0 ppm (control) o 3 ppm de clorhidrato de ácido 5-aminolevulínico a la que se había añadido un agente propagador, Approach BI (fabricado por Kao Corporation), en una proporción del 0,1% en masa. Después de la cosecha, se analizó el contenido en polifenol por HPLC del mismo modo que en el Ejemplo 1. En la Tabla 2 se muestran los resultados. Tal como se muestra en la Tabla 2, la cantidad total de polifenol contenida en la pera tratada con el presente agente aumentó 2,3 veces en comparación con el control.

[Tabla 2]

Cantidad de polifenol en pera		
	Tratamiento ALA	Control
Ácido clorogénico	1.819	6.212
Ácido cafeico	8.400	838
Ácido ferúlico	12.456	2.337
Rutina	1.595	1.021
Quercetina	111	64
Luteolina	61	59
Hesperetina	81	160
Kaempferol	18	173
Apigenina	95	0
Isoramnetina	567	0
Cantidad total de polifenol	25.202	10.863
Razón ALA/control	2,3	-
Unidad: ng/g		

Ejemplo 3

5 Con anterioridad a 210 días antes de la cosecha, se trató soja verde (Leguminosae, género soja, raza Hakusan) cultivada en un campo de producción agrícola una vez cada quincena después de la floración con una cantidad de
 10 aspersion de 100 L/ton de cada solución acuosa que contenía 0 ppm (control) o 1 ppm de clorhidrato del ácido 5-aminolevulínico. Después de la cosecha, se analizó el contenido en polifenol por HPLC del mismo modo que en el Ejemplo 1. En la Tabla 3 se muestran los resultados. Como se muestra en la Tabla 3, la cantidad total de polifenol contenida en la soja verde tratada con el presente agente aumentó 1,4 veces en comparación con el control.

[Tabla 3]

Cantidad de polifenol en soja verde		
	Tratamiento ALA	Control
Ácido clorogénico	17	45
Ácido cafeico	0	0
Ácido ferúlico	3.963	3.133
Rutina	1.032	1.378
Quercetina	261	450
Luteolina	19	28
Hesperetina	1.841	0
Kaempferol	0	10
Apigenina	11	8
Isoramnetina	0	12
Cantidad total de polifenol	7.143	5.064
Razón ALA/control	1,4	-
Unidad: ng/g		

Ejemplo 4

15 Con anterioridad a 210 días antes de la cosecha, se trató té (Camelliaceae, género camelia, raza Yabukita) cultivado en un campo de producción agrícola una vez al mes con una cantidad de aspersion de 100 L/ton de cada solución
 20 acuosa que contenía 0 ppm (control) o 3 ppm de clorhidrato del ácido 5-aminolevulínico. Después de la cosecha, se analizó el contenido en polifenol por HPLC del mismo modo que en el Ejemplo 1. En la Tabla 4 se muestran los resultados. Como se muestra en la Tabla 4, la cantidad total de polifenol contenida en la hoja del té tratada con el presente agente aumentó 1,1 veces en comparación con el control.

[Tabla 4]

Cantidad de polifenol en hoja de té		
	Tratamiento ALA	Control
Ácido clorogénico	3.474	5.245
Ácido cafeico	0	0
Ácido ferúlico	17.172	18.976

Rutina	4.519	30.105
Quercetina	8.249	1.997
Luteolina	2.181	29
Hesperetina	25.887	0
Kaempferol	970	1.553
Apigenina	915	974
Isoramnetina	3.881	1.022
Cantidad total de polifenol	67.248	59.901
Razón ALA/control	1,1	-
Unidad: ng/g		

Ejemplo 5

Con anterioridad a 150 días antes de la cosecha, se trató espárrago de raíz tetraenal (Liliaceae, género espárrago, raza Welcome) cultivado en forma de tallo vertical en un invernadero una vez cada quincena con una cantidad de aspersión de 100 L/ton de cada solución que contenía 0 ppm (control) o 3 ppm de clorhidrato del ácido 5-aminolevulínico. Tras la cosecha, se analizó el contenido en polifenol del mismo modo que en el Ejemplo 1. En la Tabla 5 se muestran los resultados. Tal como se muestra en la Tabla 5, la cantidad total de polifenol contenida en el espárrago tratado con el presente agente aumentó 2,3 veces en comparación con el control.

[Tabla 5]

Cantidad de polifenol en espárrago		
	Tratamiento ALA	Control
Ácido clorogénico	2.983	2.453
Ácido cafeico	0	0
Ácido ferúlico	9.899	7.988
Rutina	40.234	20.315
Quercetina	5.533	2.083
Luteolina	1.923	182
Hesperetina	20.198	225
Kaempferol	723	887
Apigenina	456	598
Isoramnetina	1.022	998
Cantidad total de polifenol	82.971	35.729
Razón ALA/control	2,3	-
Unidad: ng/g		

Ejemplo 6

Se dispuso de dos recipientes (longitud: 0,75 m, anchura 0,5 m) y se puso tierra en cada uno de ellos. Se usó un fertilizante químico (contenido en nitrógeno:contenido en fósforo:contenido en potasio = 15:15:15 como razón de masas) como fertilizante base y se plantaron semillas de perejil (Umbelliferae, género perejil, raza Paramount) según un método convencional y se aplicó agua una vez al día por medio de un bidón de aspersión. Con anterioridad a un mes antes de la cosecha, se realizó el tratamiento una vez por semana con 50 mL por recipiente de cada solución acuosa que contenía 0 ppm (control) o 1 ppm de clorhidrato del ácido 5-aminolevulínico. Tras la cosecha, se analizó el contenido en polifenol del mismo modo que en el Ejemplo 1. En la Tabla 6 se muestran los resultados. Tal como se muestra en la Tabla 6, la cantidad total de polifenol contenida en el perejil tratado con el presente agente aumentó 3,5 veces en comparación con el control.

[Tabla 6]

Cantidad de polifenol en perejil		
	Tratamiento ALA	Control
Ácido clorogénico	20.820	16.255
Ácido cafeico	4.240	3.050
Ácido ferúlico	0	0
Rutina	28.977	29.213
Quercetina	37.699	0
Luteolina	2.733	1.172
Hesperetina	110.685	225

Kaempferol	10.321	9.007
Apigenina	1.099	760
Isoramnetina	4.388	2.716
Cantidad total de polifenol	220.962	62.398
Razón ALA/control	3,5	-
Unidad: ng/g		

Ejemplo 7

5 Se dispuso de dos recipientes (longitud: 0,75 m, anchura 0,5 m) y se puso tierra en cada uno de ellos. Se usó un fertilizante químico (contenido en nitrógeno:contenido en fósforo:contenido en potasio = 15:15:15 como razón de masas) como fertilizante base y se plantaron plantas jóvenes de pimiento (Solanaceae, género cayena, raza Habanero) según un método convencional y se aplicó agua una vez al día por medio de un bidón de aspersión. Con anterioridad a un mes antes de la cosecha, se realizó el tratamiento una vez por semana con 50 mL por recipiente de cada solución acuosa que contenía 0 ppm (control) o 1 ppm de clorhidrato del ácido 5-aminolevulínico. Tras la cosecha, se analizó el contenido en polifenol del mismo modo que en el Ejemplo 1. En la Tabla 7 se muestran los resultados. Tal como se muestra en la Tabla 7, la cantidad total de polifenol contenida en el pimiento tratado con el presente agente aumentó 1,4 veces en comparación con el control.

[Tabla 7]

15

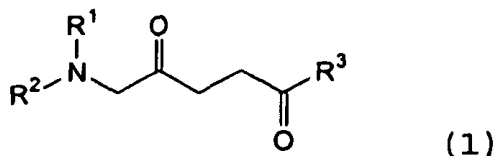
Cantidad de polifenol en pimiento		
	Tratamiento ALA	Control
Ácido clorogénico	18.020	10.829
Ácido cafeico	5.520	5.518
Ácido ferúlico	9.270	6.731
Rutina	457.080	332.108
Quercetina	26.700	21.905
Luteolina	62.060	45.610
Hesperetina	0	12
Kaempferol	0	0
Apigenina	2.570	1.438
Isoramnetina	270	166
Cantidad total de polifenol	581.490	424.317
Razón ALA/control	1,4	-
Unidad: ng/g		

Aplicabilidad industrial

20 Según la presente invención, se puede disponer de una utilización del ácido 5-aminolevulínico, de un derivado del mismo de fórmula (1) o de una sal del mismo para aumentar el contenido en polifenol en una planta y de un método para aumentar el contenido en polifenol en una planta.

REIVINDICACIONES

1. Uso de ácido 5-aminolevulínico o de un derivado del mismo de fórmula (1), o de una sal del mismo, para aumentar el contenido en polifenol en una planta:



5

donde

10 R^1 y R^2 son cada uno independientemente H, alquilo, acilo, alcoxicarbonilo, arilo o aralquilo, y R^3 es OH, alcoxi eventualmente sustituido, aciloxi, alcoxicarboniloxi, ariloxi, aralquiloxi o amino.

2. El uso según la reivindicación 1, donde la planta pertenece a Camelliaceae, Solanaceae, Leguminosae, Umbelliferae, Liliaceae o Rosaceae.

15 3. El uso según la reivindicación 1 ó 2, donde el polifenol es un polifenol basado en ácido fenilcarboxílico, basado en lignano, basado en curcumina, basado en cumarina o basado en flavonoide.

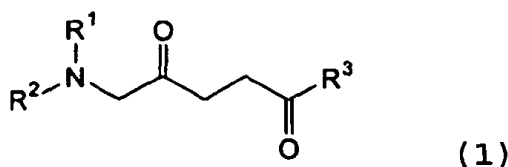
4. El uso según reivindicación 3, donde el polifenol basado en ácido fenilcarboxílico es ácido clorogénico, ácido cafeico o ácido ferúlico.

20

5. El uso según reivindicación 3, donde el polifenol basado en flavonoide es apigenina, rutina, luteolina, quercetina, kaempferol, isoramnetina o hesperetina.

25 6. El uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, donde el ácido 5-aminolevulínico o su derivado de fórmula (1), o una sal del mismo, se ha de absorber por las hojas, los tallos o las raíces.

7. Un método para aumentar el contenido en polifenol en una planta, que consiste en tratar la planta con ácido 5-aminolevulínico o un derivado del mismo de fórmula (1), o una sal del mismo:



30

donde

35 R^1 y R^2 son cada uno independientemente H, alquilo, acilo, alcoxicarbonilo, arilo o aralquilo, y R^3 es OH, alcoxi eventualmente sustituido, aciloxi, alcoxicarboniloxi, ariloxi, aralquiloxi o amino.

8. El método de la reivindicación 7, donde la planta pertenece a Camelliaceae, Solanaceae, Leguminosae, Umbelliferae, Liliaceae o Rosaceae.

40 9. El método de la reivindicación 7 ó 8, donde el polifenol es un polifenol basado en ácido fenilcarboxílico, basado en lignano, basado en curcumina, basado en cumarina o basado en flavonoide.

10. El método de la reivindicación 9, donde el polifenol basado en ácido fenilcarboxílico es ácido clorogénico, ácido cafeico o ácido ferúlico.

45

11. El método de la reivindicación 9, donde el polifenol basado en flavonoide es apigenina, rutina, luteolina, quercetina, kaempferol, isoramnetina o hesperetina.

50 12. El método de cualquiera de las reivindicaciones 7-11, donde el ácido 5-aminolevulínico o su derivado de fórmula (1), o una sal del mismo, se ha de absorber por las hojas, los tallos o las raíces.